

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-029980

(43)Date of publication of application : 29.01.2002

---

(51)Int.Cl. A61K 35/78  
A23L 1/30  
A61K 7/00  
A61K 7/48  
A61P 43/00

---

(21)Application number : 2000-210936 (71)Applicant : MARUZEN PHARMACEUT CO LTD

(22)Date of filing : 12.07.2000 (72)Inventor : KAWASHIMA YOSHIHITO  
KISHIDA NAOKO

---

(54) ESTROGENIC AGENT AND COLLAGEN PRODUCTION PROMOTER, FIBROBLAST PROLIFERATIVE AGENT, FOOD FOR COSMETOLOGICAL USE AND SKIN COSMETIC

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a new medicinal agent alternative to conventional moisturizers, serving as an agent capable of effectively preventing the aging of the skin and maintaining both the firmness and glossiness of the skin.

SOLUTION: This new medicinal agent, an estrogenic agent, collagen production promoter or fibroblast proliferative agent, is obtained by subjecting the embryos (embryo buds) in the seeds of Nelumbo nucifera Gaertn. belonging to Nymphaea family to extraction with a hydrophilic organic solvent such as methanol, ethanol, 1,3-butylene glycol or glycerol, water or a water-based solvent such as a mixture thereof. The other objective foods for cosmetological use including candies, soft/refreshing drinks and tablets, or skin cosmetics including cream, milky lotions, lotions and pack are obtained by using the above estrogenic agent, collagen production promoter or fibroblast proliferative agent.

---

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against  
examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-29980

(P2002-29980A)

(43)公開日 平成14年1月29日 (2002.1.29)

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テームト* (参考)
A 6 1 K 35/78		A 6 1 K 35/78	C 4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B 4 C 0 8 3
A 6 1 K 7/00		A 6 1 K 7/00	K 4 C 0 8 8
			W
	7/48	7/48	
審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 10 頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号 特願2000-210936(P2000-210936)

(22)出願日 平成12年7月12日 (2000.7.12)

(71)出願人 591082421

丸善製薬株式会社

広島県尾道市向東町14703番地の10

(72)発明者 川嶋 善仁

広島県尾道市向東町14703番地の10 丸善  
製薬株式会社内

(72)発明者 岸田 直子

広島県尾道市向東町14703番地の10 丸善  
製薬株式会社内

(74)代理人 100104307

弁理士 志村 尚司

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 エストロゲン様作用剤及びコラーゲン産生促進剤、線維芽細胞増殖作用剤、美容用食品並びに皮膚化粧料

## (57)【要約】

【目的】 皮膚の老化を効果的に防止し、張りや艶を維持するものとして、従来の保湿剤になり変わる新たな薬剤を提供する。

【構成】 すいれん科ハス属のハス (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) の種子中にある胚 (胚芽) を、メタノール、エタノール、1, 3-ブチレングリコール、グリセリンなどの親水性有機溶媒や水又はこれらの混合物などの水系溶媒を用いて抽出し、本発明に係るエストロゲン様作用剤及びコラーゲン産生促進剤、線維芽細胞増殖作用剤を得る。また、これらのエストロゲン様作用剤及びコラーゲン産生促進剤、線維芽細胞増殖作用剤を用いてキャンディや清涼飲料水、錠剤などの美容用食品、あるいはクリーム、乳液、ローション、パックなどの皮膚化粧料を得る。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ハス胚芽抽出物からなることを特徴とするエストロゲン様作用剤。

【請求項2】 ハス胚芽抽出物からなることを特徴とするコラーゲン産生促進剤。

【請求項3】 ハス胚芽抽出物からなることを特徴とする線維芽細胞増殖作用剤。

【請求項4】 請求項1記載のエストロゲン様作用剤及び／又は請求項2記載のコラーゲン産生促進剤及び／又は請求項3記載の線維芽細胞増殖作用剤を含有することを特徴とする美容用食品。

【請求項5】 請求項1記載のエストロゲン様作用剤及び／又は請求項2記載のコラーゲン産生促進剤及び／又は請求項3記載の線維芽細胞増殖作用剤を含有することを特徴とする皮膚化粧料。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はエストロゲン様作用剤及びコラーゲン産生促進剤、線維芽細胞増殖作用剤、美容用食品並びに皮膚化粧料に関する。具体的には、女性ホルモンの一種であるエストロゲンと同様の作用を有する新規なエストロゲン様作用剤、皮膚を構成するコラーゲンの産生を促進するコラーゲン産生促進剤、人の皮膚にある線維芽細胞を活性化させる線維芽細胞増殖作用剤並びにこれらの薬剤を使用した美容用食品及び皮膚化粧料に関する。

## 【0002】

【従来の技術】加齢に伴う皮膚老化の一因は、女性ホルモンの一種であるエストロゲンの分泌が減退することである。そこで、エストロゲンの分泌が衰える更年期以後の女性に対して、エストロゲンと同様の作用をする物質を経皮的または経口的に投与することが行われている。そのためのエストロゲン様作用剤として、従来から、ステロイド系エストロゲン、非ステロイド系エストロゲン、フラボン系化合物等が使用されてきた。

【0003】ここにおいて、皮膚の表皮及び真皮は、表皮細胞、線維芽細胞及びこれらの細胞の外にあって皮膚構造を支持するコラーゲン等の細胞外マトリックスにより構成されている。

【0004】若い皮膚においては、線維芽細胞の増殖は活発であり、線維芽細胞やコラーゲン等の皮膚構成組織の相互作用が恒常性を保つことにより水分保持、柔軟性、弾力性等が確保され、肌は外見的にも張りや艶があってみずみずしい状態に維持される。

【0005】ところが、紫外線の照射、空気の著しい乾燥、過度の皮膚洗浄等、ある種の外的因子の影響があったり、加齢が進んだりすると、線維芽細胞の増殖が遅くなり、コラーゲンの産生量も減少する。その結果、皮膚はその保湿機能や弾力性が低下し、角質は異常剥離を始め、肌は張りや艶を失い、荒れ、シワ等の老化症状を呈

するようになる。

【0006】このような皮膚の老化を防止・改善するために最も普通に行われているのは、天然保湿因子（NMF）である糖、アミノ酸、有機酸、ピロリドンカルボン酸塩、コラーゲン、ヒアルロン酸等のムコ多糖類、グリセリン、1, 3-ブチレングリコール等の保湿作用のある物質を塗布して皮膚の保湿性を高めることである。しかしながら、保湿剤は表皮の角質の状態を改善することは期待できない。また、皮膚からの水分蒸発を遅くするものであるから概して使用感が悪く、長期間使用すると皮膚障害を起こすことさえある。

【0007】従って、皮膚の老化を効果的に防止し、張りや艶を失わせないためには、従来の保湿剤では不十分であり、線維芽細胞の賦活化作用やコラーゲン等の産生促進作用を有する薬剤を使用するのが好ましい。

【0008】一方、ハスは古来よりその実は食されてあるいは漢方薬として使用されており、その安全性は確立されている。このハスを用いたものとして、例えば、特開昭62-51606号公報に、日焼け後のほてり、カミソリまけや肌荒れ等に作用するとして、スイレン科植物から水や低級アルコールなどの溶媒を用いて抽出された抽出物が開示されている。また、ハスの種子の胚芽を用いたものとしては、特開昭63-66126号公報に、水や水混和性の有機溶媒などを用いて抽出された抽出物が血圧降下作用を有するとして、さらには、特開昭64-90129号公報に、同じくハスの胚芽から水や低級アルコールなどの溶媒を用いて抽出された抽出物が、高血圧症などの循環器疾患や気管支喘息などの呼吸器疾患、不眠症などの中枢神経疾患などに作用を有するとして、それぞれ開示されている。

【0009】しかしながら、ハス（種子）の胚芽については上記作用・効果が知られているだけであり、皮膚の老化防止作用等については、知られていなかった。

## 【0010】

【発明が解決しようとする課題】そこで、本発明者らは、皮膚の老化を効果的に防止し、張りや艶を維持するものとして、従来の保湿剤になり変わる新たな薬剤を求めるべく、鋭意努力したところ、ハス胚芽の抽出物中に、エストロゲン作用やコラーゲン産生の促進作用並びに線維芽細胞増殖作用があることを見出し、本発明を完成させるに至った。

## 【0011】

【課題を解決するための手段】本発明に係るエストロゲン様作用剤及びコラーゲン産生促進剤並びに線維芽細胞増殖作用剤は、それぞれハス胚芽抽出物からなることを特徴としている。本発明においては、すいれん科ハス属のハス（*Nelumbo nucifera* Gaertn.）の種子中にある胚（胚芽）が用いられる。胚芽は、通常緑色で棒状をしており、採取した種子から取り出し、直ちに乾燥したものが好適に用いられる。

【0012】ハス胚芽抽出物は、この胚芽を、水やメタノール、エタノール、イソプロパノールなどの各種脂肪族低級アルコール、1, 3-ブチレングリコール、エチレングリコール、グリセリンなどの親水性有機溶媒、これら親水性有機溶媒の混合物及びこれらの親水性有機溶媒と水との混液などの各種水系溶媒を用いて抽出することにより得られるものである。

【0013】抽出に際しては得られた胚芽をそのまま用いることもできるが、抽出効率を高めるため、粉碎して用いるのが好ましい。また、ヘキサンなどの非水系溶媒（非極性溶媒）を用いて予め脱脂処理しておく、不純物含量が少なくなり、より効果の高い抽出物が得られる。

【0014】抽出は、室温ないし加熱下において、抽出溶媒に応じて任意の装置を用いて行うことができる。例えば、抽出溶媒を満たした処理槽に粉碎したハス胚芽を投入し、ときどき攪拌しながら可溶性成分を溶出させる。その後、ろ過して抽出残渣を除去し、抽出液を得ることができる。このとき用いる溶媒量は、概ねハス胚芽に対して重量比で、1:5~1:20となるように用いるのがよい。

【0015】こうして得られた抽出物（液）は、そのままエストロゲン様作用剤として、またはコラーゲン産生促進剤として、あるいは線維芽細胞増殖作用剤として用いることも出来るが、抽出液を濃縮した濃縮液やさらに濃縮したエキス状物あるいは、抽出溶媒等を留去した乾燥物として提供することもできる。

【0016】また、ハス胚芽の抽出物は特有のにおいと味を有するので、生理活性を低下させない程度に脱臭や脱色等を目的として精製を行うのが好ましい。もちろん、その使用目的等に応じて、例えば本発明に係る美容用食品や皮膚化粧料に含有させる場合には、大量に使用するものではないため、そのまま使用しても実用上差し支えない。

【0017】さらに本発明のエストロゲン様作用剤やコラーゲン産生促進剤並びに線維芽細胞増殖作用剤には、必要に応じて上記抽出物に、保存やその取り扱いを容易にすべく、ショ糖や乳糖などの各種糖類、たんぱく質やデンプンなどの賦形剤、その他の任意の助剤を用いることにしてもよい。また、適宜、製剤化して提供することも可能であって、例えば、粉末状、顆粒状、錠剤状など任意の剤形として提供することも可能なものである。

【0018】これらのエストロゲン様作用剤やコラーゲン産生促進剤並びに線維芽細胞増殖作用剤は、任意の食

品に添加することにより、あるいはこれらを主成分とした栄養補助食品などの美容用食品として、経口的に活用することができる。添加可能な食品には、例えば、各種の清涼飲料水や果汁飲料、和洋菓子、乳製品その他の畜産加工品、果実加工品、野菜加工品、穀物の加工品、水産加工品、調味料、ビタミンなどを主成分としたいわゆる各種の健康食品などの多くの飲食品が挙げられる。また、栄養補助食品としても、例えば、液剤の形態のものや錠剤などの形態のものとして提供することもできる。この場合の添加率は、添加対象である美容用食品の一般的な摂取量を考慮して、液状、固形状など抽出物の形態によっても異なるが、概ね通常成人1日当たりのハス胚芽抽出物摂取量として約1~1000mg、原料であるハス胚芽乾燥物に換算して、概ね4~1200mgになるように添加するのが適当である。

【0019】また、ハス胚芽抽出物の作用を最も効果的に発揮させるためには、各種の皮膚化粧料に配合することである。配合対象として適当な皮膚化粧料は、例えば、軟膏、クリーム、乳液、ローション、パック、入浴剤等であり、この場合の配合量として、ハス胚芽抽出物として概ね0.01~10重量%、原料であるハス胚芽乾燥物換算として、概ね0.04~40%になるように添加するのが適当である。

【0020】なお、本発明に係る美容用食品や皮膚化粧料には、これらのエストロゲン様作用、コラーゲン産生促進作用あるいは線維芽細胞増殖作用のいずれかを妨げない限り、これらの美容用食品や皮膚化粧料の製造に通常用いられる各種の原材料を用いることができるのは言うまでもない。

【0021】

【実施例】次に、本発明の実施例であるエストロゲン様作用剤やコラーゲン産生促進剤並びに線維芽細胞増殖作用剤並びに本発明の製剤例である美容用食品及び皮膚化粧料を示し、さらに本発明について詳細に説明する。

【0022】（実施例1）ハス胚芽の粗碎物300gを表1に示す抽出溶媒2000mlにそれぞれ投入し、よく攪拌しながら70℃で3時間抽出した。その後、ろ過して得たる液を40℃で減圧下に濃縮した後、さらに減圧乾燥機で乾燥して、粉末状のハス胚芽抽出物であるエストロゲン様作用剤、コラーゲン産生促進作用剤、線維芽細胞増殖作用剤を得た。その収量を表1に示す。

【0023】

【表1】

抽出溶媒	抽出物収率(重量%)
水	32
エタノール・水混液(容量比1:1)	25
エタノール	16
イソプロパノール・水混液 (容量比1:1)	14

【0024】(実施例2) ハス胚芽の粗砕物300gを、1, 3-ブチレングリコールと水の混液(容量比1:1)2000mlに投入し、攪拌しながら80℃で3時間抽出した。その後、ろ過して液体状のハス胚芽抽出物であるエストロゲン様作用剤、コラーゲン産生促進作用剤、線維芽細胞増殖作用剤、1440mlを得た。このものの固形分濃度は、4.0重量%であった。なお、固形分濃度は、当該抽出物の少量を取り、蒸発乾固させて求めた(以下同様)。

【0025】(実施例3) 抽出溶媒をグリセリンと水の混液(容量比1:1)を用いた他は、実施例2と同様に

(製剤例1)

〔乳液 100ml中〕

ハス胚芽エタノール・水混液(1:1)抽出物	1.0g
グリチルレチン酸ステアリル	0.2g
セチルアルコール	0.5g
アスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム	3.0g
ミツロウ	2.0g
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン(10E.O.)	1.0g
モノステアリン酸グリセリル	1.0g
ヒアルロン酸	0.1g
プロピレングリコール	5.0g
オウゴン抽出液	1.0g
エンドウ種子抽出物	1.0g
エタノール	3.0g
パラオキシ安息香酸メチル	0.3g
香料	0.03g
精製水	残量

上記成分分量を取り、常法に従って本発明に係る皮膚化粧料である乳液を作製した。

して、液体状のハス胚芽抽出物1540mlを得た。このものの固形分濃度は、3.5重量%であった。

【0026】(実施例4) 抽出溶媒をプロピレングリコールと水の混液(容量比1:1)2000mlを用いた他は、実施例2と同様に、液体状のハス胚芽抽出物1540mlを得た。このものの固形分濃度は、3.3重量%であった。

【0027】次に、上記実施例1ないし実施例4で得た各種エストロゲン様作用剤、コラーゲン産生促進作用剤、線維芽細胞増殖作用剤を用いて、本発明に係る皮膚化粧料及び美容用食品を各種作製した。

【0028】

(製剤例2)

〔乳液 100ml中〕

ハス胚芽エタノール抽出物	0.1g
ハス胚芽	
1, 3-ブチレングリコール・水混液(1:1)抽出物	1.0g
ホホバオイル	4.0g
オリーブオイル	2.0g
スクワラン	2.0g
セタノール	2.0g
酢酸トコフェロール	0.2g

モノステアリン酸グリセリル	2. 0 g
ポリオキシエチレンセチルエーテル (2 OE.O.)	2. 5 g
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (2 OE.O.)	2. 0 g
1, 3-ブチレングリコール	3. 0 g
パラオキシ安息香酸メチル	0. 15 g
シラカバ樹皮抽出物	0. 5 g
油溶性甘草エキス	0. 05 g
ケイ皮抽出物	0. 5 g
香料	0. 05 g
精製水	残 量

上記成分分量を取り、常法に従って本発明に係る皮膚化粧料である乳液を作製した。 【0029】

(製剤例3)

[化粧水 100ml中]

ハス胚芽水抽出物	0. 2 g
ハス胚芽	
1, 3-ブチレングリコール・水混液 (1 : 1) 抽出物	2. 0 g
グリセリン	3. 0 g
1, 3-ブチレングリコール	3. 0 g
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (2 OE.O.)	0. 5 g
パラオキシ安息香酸メチル	0. 15 g
クエン酸	0. 1 g
クエン酸ナトリウム	0. 1 g
グリチルリチン酸ジカリウム	0. 3 g
リンデン抽出物	0. 5 g
ビワ抽出物	0. 5 g
酵母エキス	0. 3 g
ヒアルロン酸水溶液 (固形分1%)	3. 0 g
香料	0. 05 g
精製水	残 量

上記成分分量を取り、常法に従って本発明に係る皮膚化粧料である化粧水を作製した。 【0030】

(製剤例4)

[クリーム 100g中]

ハス胚芽エタノール抽出物	0. 1 g
ハス胚芽	
1, 3-ブチレングリコール・水混液 (1 : 1) 抽出物	1. 0 g
ニンジン抽出液	0. 2 g
ジュ抽出物	0. 5 g
トルメンチラ抽出物	0. 5 g
加水分解コンキオリン	0. 1 g
流動パラフィン	5. 0 g
小麦セラミド	0. 1 g
サラシミツロウ	4. 0 g
セタノール	3. 0 g
スクワラン	10. 0 g
ラノリン	2. 0 g
ステアリン酸	1. 0 g
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (2 OE.O.)	1. 5 g
モノステアリン酸グリセリル	3. 0 g

1, 3-ブチレングリコール	6.0 g
パラオキシ安息香酸メチル	1.5 g
香料	0.1 g
精製水	残 量

上記成分分量を取り、常法に従って本発明に係る皮膚化粧料であるW/O型のクリームを作製した。 【0031】

(製剤例5)

[パック 100 g 中]

ハス胚芽	
1, 3-ブチレングリコール・水混液 (1 : 1) 抽出物	5.0 g
ポリビニルアルコール	15.0 g
ブラセンタエキス	1.0 g
アスコルビン酸	0.02 g
プエラリアエキス	0.2 g
オトリギソウ抽出物	1.0 g
ポリエチレングリコール	3.0 g
プロピレングリコール	7.0 g
エタノール	10.0 g
パラオキシ安息香酸メチル	0.05 g
香料	0.05 g
精製水	残 量

上記成分分量を取り、常法に従って本発明に係る皮膚化粧料であるパックを作製した。 【0032】

(製剤例6)

[錠剤状美容用食品]

ハス胚芽	
エタノール・水混液 (1 : 1) 抽出物	100 (重量部)
コラーゲン	30
ムコ多糖・タンパク (コンドロイチン)	10
ヒアルロン酸	1
月桃葉茎抽出物	33
黒米抽出物 (ポリフェノールを含む)	33
甘草抽出物 (グリチルリチンを含む)	10
ミルク蛋白加水分解物	
(アミノ酸、低分子ペプチドを含む)	10
ビタミンB群混合粉末 (全ビタミンB群を含む)	4
ビタミンC	10
粉糖 (ショ糖)	47
グリセリン脂肪酸エステル	12

上記成分分量を取り、常法に従って本発明に係る美容用食品である錠剤状の健康・栄養補助食品を製造した。 【0033】

(製剤例7)

[顆粒状美容用食品]

ハス胚芽水抽出物	200 (重量部)
真珠蛋白加水分解物 (各種アミノ酸、ペプチドを含む)	15
シルク蛋白加水分解物	15
大豆イソフラボン	10
紫米抽出物 (ポリフェノールを含む)	100
赤ワインエキスパウダー (プロシアニジンを含む)	30
酵母エキス	



(グルタチオン、核酸、アミノ酸、ビタミンを含む)	10
ザクロ種子抽出物	10
小麦胚芽抽出物	
(ビタミン、クロム、セレン、モリブデンを含む)	10
DNA	30
ビートオリゴ糖	1060
ステビア抽出物	10

上記成分分量を取り、常法に従って本発明に係る美容用食品である顆粒状の健康・栄養補助食品を製造した。 【0034】

(製剤例8)

〔カプセル状美容用食品〕

ハス胚芽

エタノール・水混液(1:1)抽出物	50 (重量部)
セラミド	30
リン脂質(レシチン)	10
ビタミンE(トコフェロール)	17
マルチカロチン	
( $\alpha$ 及び $\beta$ カロチン、ルテイン、リコペン)	1.0
赤米抽出物(シクロアルテノールエステルを含む)	33
オクタコサノール	1
植物ステロール	5
シソの実油( $\alpha$ -リノレン酸を含む)	20
精製魚油(DHA、EPAを含む)	20
ごま油(リグナン化合物を含む)	20
オリーブ油	10
大豆、なたね混合油	62
グリセリン脂肪酸エステル	12

上記成分分量を取り、常法に従ってゼラチンカプセル化した。 栄養補助食品を製造した。  
し、本発明に係る美容用食品であるカプセル状の健康・ 【0035】

(製剤例9)

〔清涼飲料水状美容用食品 100重量部中〕

ハス胚芽水抽出物	1 (重量部)
ローヤルゼリー	3
水溶性コラーゲン	8
ハトムギエキス	1
高麗ニンジンエキス(サポニンを含む)	1
ブラセンタエキス	1
プエラリアエキス(フラボノイドを含む)	1
パープルヤムエキス	1
オリゴ糖	5
ショ糖	10
ブルーン果汁	2
ザクロ果汁	5
グレープフルーツ果汁	10
ビタミンC	1
グレープフルーツフレーバー	0.7
水	残量

上記成分分量を取り、攪拌溶解して、本発明に係る美容用食品である清涼飲料水状の健康・栄養補助食品を製造した。 【0036】

(製剤例10)

## 〔キャンディ状美容用食品〕

## ハス胚芽

エタノール・水混液 (1 : 1) 抽出物	2 (重量部)
水あめ	30
甘草エキス	3
甜茶エキス	1
ブルーベリーエキス (アントシアンを含む)	1
緑茶エキス (植物ポリフェノールを含む)	3
ストロベリー 1/5 濃縮果汁	1
赤キャベツ色素	0.05
レモン果汁	0.5
水	5

上記成分分量を取り、常法に従って本発明に係る美容用食品であるキャンディ状の健康・栄養補助食品を製造した。

## 【0037】 (効果試験)

〔エストロゲン様作用〕 上記実施例 1～4 で得た各種ハス胚芽抽出物について、エストロゲン依存性細胞の増殖に対する影響を調べる Thomas らの方法 (In Vitro Estrogen-like action)

o Cell. Dev. Biol. 28A, 595-602, 1992) に従って、エストロゲン様作用を調べた。その結果を表 2 に示す。なお、水を用いたコントロール値を 100 として示す。

## 【0038】

## 【表 2】

試料 (抽出溶媒)	試料濃度 (12.5 ppm)	試料濃度 (3.125 ppm)
水	115.9 ± 1.2	107.5 ± 1.0
エタノール・水混液 (容量比 1 : 1)	130.5 ± 2.4	127.7 ± 3.4
エタノール	105.9 ± 2.2	100.2 ± 1.4
イソプロパノール・ 水混液 (容量比 1 : 1)	131.1 ± 2.6	120.5 ± 1.6
1,3-ブチレングリコール・ 水混液 (容量比 1 : 1)	126.7 ± 1.4	118.6 ± 3.0
グリセリン・水混液 (容量比 1 : 1)	121.9 ± 2.2	113.5 ± 1.1
プロピレングリコール・ 水混液 (容量比 1 : 1)	120.0 ± 1.3	111.5 ± 1.7

【0039】〔コラーゲン産生促進作用〕 上記実施例 1～4 で得た各抽出物について、Webster らの方法 (Anal. Biochem., Vol 96, 220, 1979) に従って、各抽出物を添加した培地で培養した線維芽細胞によって産生されたコラーゲン量を測定した。一方、各抽出物を添加しない培地で産生された放射活性を測定し、このコラーゲン量を 100 とした場合のコラーゲン産生量割合を求めた。以下に具体的な試験方法を示し、その結果を表 3 に示す。  
試験法：ヒトの線維芽細胞をプレートに播種し、37℃、5%二酸化炭素下、2種類の試料添加培地 (試料濃度：200 ppm 及び 50 ppm) で数日間培養した

後、β-アミノプロピオニトリルと [3H] - プロリンとを添加し、更に 24 時間培養した。当該培養液全体にペプシン/酢酸溶液を加えて 4℃下で 16 時間消化し、次いでこの消化液にキャリアーを加えて、0.7 M 食塩水で沈殿させ、さらに中性条件下で再溶解させて、4.2 M 食塩水で再沈殿させた。得られた沈殿物を 20 v/v % エタノールで洗浄した後、その沈殿物の放射活性を測定した。

## 【0040】

## 【表 3】

## コラーゲン産生促進作用

試料 (抽出溶媒)	試料濃度 (200ppm)	試料濃度 (50ppm)
水	190.7±3.5	148.5±2.8
エタノール・水混液 (容量比1:1)	264.5±4.5	204.0±2.1
エタノール	311.2±8.9	222.7±1.5
イソプロパノール・ 水混液(容量比1:1)	225.6±5.2	175.5±3.3
1,3-ブチレングリコール・ 水混液(容量比1:1)	189.6±4.2	135.9±4.3
グリセリン・水混液 (容量比1:1)	178.8±6.9	125.8±5.1
プロピレングリコール・ 水混液(容量比1:1)	175.9±2.2	127.5±3.0

【0041】〔線維芽細胞増殖作用〕上記実施例1～4で得た各種ハス胚芽抽出物について、多田らによるMT法(J. Immunol. Methods. 93, 157, 1986)に従い、ヒト正常新生児皮膚線維芽細胞(NBIRGB)を用いて線維芽細胞増殖作用を測定した。その結果を表4

## 線維芽細胞増殖作用

試料 (抽出溶媒)	試料濃度 (200ppm)	試料濃度 (100ppm)
水	159.7±19.6	157.5±17.0
エタノール・水混液 (容量比1:1)	172.0±16.9	164.5±19.8
エタノール	189.5±15.6	174.5±13.4
イソプロパノール・ 水混液(容量比1:1)	154.2±13.6	140.5±11.6
1,3-ブチレングリコール・ 水混液(容量比1:1)	146.8±12.5	138.8±13.5
グリセリン・水混液 (容量比1:1)	141.8±14.2	133.9±10.5
プロピレングリコール・ 水混液(容量比1:1)	135.0±10.3	124.5±10.1

(評価結果)表2ないし表4に示すように、水やエタノール、イソプロパノールと水の混液、1,3-ブチレングリコールと水の混液など各種水系溶媒を用いたハス胚芽抽出物には、それぞれ良好なエストロゲン様作用、コラーゲン産生促進作用並びに線維芽細胞増殖作用が認められた。

【0043】〔肌荒れ改善効果〕次に上記製剤例1に示す乳液について、下記の評価試験を行った。なお、比較例として、ハス胚芽抽出物を含まない乳液を作製し、これを用いた。

・被験者：22～43歳の健常な多数の女性の中から、

に示す。なお、水を用いたコントロール値を100として示す。

【0042】

【表4】

下記評価基準に従って評点1又は2に該当する肌荒れと判断された者20名を被験者として選定した。

・塗布試験：各被験者に、顔の右半分製剤例1に示す乳液を、左半分には比較例である乳液を、朝夕各1回、その適量を30日間塗布してもらった。

・評価：塗布試験終了後、シルフロ(Flexicl Developments Ltd 製)によるレプリカ法を用いて、顔のレプリカを取り、倍率50倍の光学顕微鏡で皮紋の状態及び角質剥離状態を観察し、下記の評価基準に従って肌の状態を判定した。その判定結果を表5に示す。

【0044】判定基準

## 評 点

- 1 : 皮溝・皮丘が消え、広範囲の角質がめくれている。  
(肌荒れ状態)  
2 : 皮溝・皮丘が不鮮明。角質が部分的にめくれている。  
(肌荒れ状態)  
3 : 皮溝・皮丘は認められるが平坦である。(普通肌)  
[肌荒れ改善効果]

- 4 : 皮溝・皮丘が鮮明である。(比較的美しい肌)  
5 : 皮溝・皮丘が極めて鮮明で整っている。(美しい肌)  
【0045】  
【表5】

評 点	試験開始前	実施例塗布部	対象例塗布部
1	11名	0名	8名
2	9名	0名	7名
3	0名	6名	3名
4	0名	10名	2名
5	0名	4名	0名

【0046】表5に示すように、本発明の製剤例である乳液を塗布した領域においては、比較例である乳液を塗布した場合に比べ、顕著に肌荒れが改善されたことが分かる。

## 【0047】

【発明の効果】本発明によれば、安全性が高く、エストロゲンと同様の作用を有する新規なエストロゲン様作用

剤、皮膚を構成するコラーゲンの産生を促進するコラーゲン産生促進剤、人の皮膚にある線維芽細胞を活性化させる線維芽細胞増殖作用剤を提供できる。これらを美容用食品や皮膚化粧品に適用することにより、皮膚の老化を効果的に防止し、張りや艶の維持に大きく貢献できる。

## フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7	識別記号	F I	テームコード (参考)
A 6 1 P 43/00	1 0 5 1 1 1	A 6 1 P 43/00	1 0 5 1 1 1

Fターム(参考) 4B018 MD61 ME10 ME14  
4C083 AA032 AA082 AA111 AA112  
AA122 AB052 AC012 AC022  
AC072 AC102 AC122 AC182  
AC242 AC392 AC402 AC482  
AD042 AD332 AD532 AD642  
AD662 CC02 CC05 DD31  
EE12  
4C088 AB39 AC04 CA03 ZA91 ZB21  
ZC03 ZC11

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**